

HOVEDFAGSOPPGAVE FOR GRADEN CAND. PHARM.

Undersøkelse av vannløselig og totalt silisiuminnhold i ulike norske arter av "Kjerringrokk", "*Equisetum spp.*"

Sverre Forberg Thingstad



**Kjemisk seksjon,
Farmasøytisk institutt,
Matematisk-naturvitenskaplig fakultet,
Universitetet i Oslo, Norge
2004**

Undersøkelse av vannløselig og totalt silisiuminnhold i ulike norske arter av "Kjerringrokk", "*Equisetum spp.*"

Sverre Forberg Thingstad

Denne oppgava blei gjennomført ved Kjemisk seksjon, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo i tidsrommet desember 2003 til november 2004.

Veiledere:

Professor Berit Smestad Paulsen, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo
Professor Ragnar Bye, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

FORORD

Jeg vil gjerne få takke professor Berit Smestad Paulsen og professor Ragnar Bye for god veiledning og opplæring i løpet av året. Det har kommet mange gode innspill fra disse to under hovedfagarbeidet.

Videre vil jeg få takke alle ansatte på avdelinga for et godt miljø og mange gode kaker på fredagene. Takk også til hovedfagstudentene Håvard og Astrid for godt miljø på hovedfagskontoret.

Oslo, november 2004

.....
Sverre Forberg Thingstad

Til Benedikte

INNHOLDSFORTEGNELSE

1. SAMMENDRAG.....	4
2. FORKORTELSER.....	5
3. INTRODUKSJON.....	6
3.1 BAKGRUNN.....	6
3.2 HENSIKT.....	7
3.3 INFORMASJON OM KJERRINGROKK.....	8
4. TEORI.....	17
4.1 MIKROBØLGEDEKOMPONERING AV PRØVEMATERIALE.....	17
4.2 ATOMABSORPSJONSSPEKTROMETRI.....	18
5. EKSPERIMENTELT.....	23
5.1 KJEMIKALIER, GASS OG UTSTYR.....	23
5.2 STAMLØSNINGER OG STANDARDLØSNINGER.....	25
5.3 BEHANDLING AV PLANTEMATERIALET FORUT FOR FORSØKENE.....	27
5.4 INNLEDENDE FORSØK MED MUFFELOVN.....	27
5.5 EKSTRAKSJON MED VANN.....	28
5.6 BESTEMMELSE AV TOTALINNHOOLD AV SILISIUM.....	29
5.7 FRAKSJONSANALYSE.....	29
5.8 ANALYSE AV BRØD.....	31
5.9 MIKROBØLGEDEKOMPONERING AV PRØVEMATERIALE.....	32
5.10 ATOMABSORPSJONSSPEKTROMETRI.....	35
5.11 PARTIELL VALIDERING.....	36
6. RESULTATER OG DISKUSJON.....	37
6.1 VANNLØSELIG OG TOTALT SILISIUMINNHOOLD I PLANTEMATERIALET.....	37
6.2 FRAKSJONSANALYSE.....	39
6.3 SILISIUMINNHOOLD I BRØD.....	42
6.4 PARTIELL VALIDERING.....	43
7. KONKLUSJON.....	44
8. REFERANSELISTE.....	45

1. Sammendrag

Mitt hovedfagarbeid har bestått i å utvikle metoder for å bestemme konsentrasjonen av silisium i et vannuttrekk av plantene *Equisetum arvense* (åkersnelle) og *Equisetum sylvaticum* (skogsnelle) og dessuten totalinnholdet av silisium i de samme plantene. En annen del av arbeidet har vært å utvikle en metode for å bestemme innholdet av silisium i ulike uttrekk med løsemidler for å si noe om på hvilken form silisium befinner seg i plantematerialet. For å kunne sammenligne innhold av silisium i plantene med innholdet av silisium i vanlig mat har en metode for å bestemme totalinnholdet av silisium i brød blitt utvikla. For å bestemme konsentrasjonen av silisium i prøvene blei det benytta et atomabsorpsjonsspektrometer.

Plantene som var med i forsøkene, inneholdt forholdsvis mye silisium. På det meste var det opp mot 5 prosent av total vekt av planta (tørka). Men kun 6-10 prosent av den totale silisiumkonsentrasjonen blei gjenfunnet i vannuttrekk av de aktuelle plantene.

De organiske løsemiddeluttrekkene inneholdt lave konsentrasjoner av silisium. Det kan tyde på at silisium er bundet til både løselige og uløselige organiske molekyler i plantene. I kaliumhydroksiduttrekkene var innholdet av silisium forholdsvis høyt. En forklaring på dette kan være at silisium i form av kiselsyre, som er en svak syre, løses godt i det basiske kaliumhydroksidet.

Det viste seg at brødet undersøkt i forsøket inneholdt om lag 0,09 prosent silisium.

Ved inntak av ei brødslike får en i seg om lag 0,03 gram silisium. Tillaging av te etter de metodene som er angitt i denne oppgava, vil med 1 gram plantemateriale som utgangspunkt gi inntak av om lag 0,002 gram silisium. Ut i fra disse tallene er det naturlig å anta at en får dekket kroppens behov for silisium ved å spise brød.

2. FORKORTELSER

AAS	Atomabsorpsjonsspektroskopi
A	Absorbans
a	Absorpsjonskoeffisient for et grunnstoff ved en gitt bølgelengde
b	Lengden av lysveien gjennom flammen
c	Totalkonsentrasjonen av det aktuelle stoffet i prøveløsningen
HCl	Saltsyre
HF	Flussyre
HNO ₃	Salpetersyre
H ₂ O ₂	Hydrogenperoksid
I ₀	Intensiteten av lys som sendes inn mot flammen
I	Intensiteten av lyset etter passasje gjennom flammen
KOH	Kaliumhydroksid
M	Molar
μm	Mikrometer
μM	Mikromolar
mA	Milliampere
NaOH	Natriumhydroksid
NMD	Norsk Medisinaldepot AS
nm	Nanometer
N ₂ O	Dinitrogenoksid
Si(OH) ₄	Kiselsyre
Si	Silisium

3. INTRODUKSJON

3.1 BAKGRUNN

Ifølge gammel folkemedisinsk tradisjon, og også nyere viten, har inntak av planta kjerringrokk, som oftest i form av te, flere positive effekter. Dette knyttes ofte til det høye innholdet av silisium i denne arten, faktisk opptil 5 prosent slik det er angitt i litteraturen. Siden den helsebringende effekten av planta knyttes til grunnstoffet silisium, vil det være hensiktsmessig å finne ut hvor mye silisium i forhold til det totale kvantum en faktisk får i seg ved å lage seg en te basert på denne planta. Den første oppgava blir dermed å finne en metode for å måle andelen av totalt silisium som trekkes ut av plantematerialet ved tillaging av te og den andre en måte å måle det totale innholdet av silisium i plantematerialet. I tillegg til dette har det også vært ønskelig å finne ut noe om hvilken form silisium befinner seg i.

Kjerringrokk som er i handelen i Norge, er importert. Men en kunne like gjerne tenke seg at råvarer fra Norge blei brukt, da kjerringrokk er meget utbredt her til lands. Målinger og sammenligninger av silisiuminnhold i både apotekerdrogen og norske planter er dermed av interesse.

3.2 Hensikt

Hensikten med denne oppgava var å finne en metode for å bestemme konsentrasjonen av silisium i et vannuttrekk (te) av plantene *Equisetum arvense* (åkersnelle) og *Equisetum sylvaticum* (skogsnelle) og totalinnholdet av silisium i de samme plantene. En metode for å måle silisiuminnholdet i brød skulle også utvikles. Resultatene her skulle deretter sammenlignes med silisiuminnholdet i vannuttrekk av plantene for å kunne si noe om det er hensiktsmessig å drikke te for å tilføre kroppen mer silisium enn det som daglig inntas gjennom kosten. I tillegg til dette skulle det også gjøres en fraksjonsanalyse med tanke på å finne ut på hvilken form silisium befinner seg i planta.

3.3 Informasjon om kjerringrokk

I Norge i dag finnes det ni arter av slekta *Equisetum*, kjerringrokkartene. I denne oppgava blir det hovedsaklig satt fokus på *Equisetum arvense* (åkersnelle) (se figur 3-2). I tillegg er *Equisetum sylvaticum* (skogsnelle) tatt med (se figur 3-1). De latinske navnene på de ni artene peker på hvor plantene vokser, og dette gjelder også for de norske navnene. Dersom en tar for seg for eksempel *Equisetum arvense*, finner en at ordet *Equisetum* består av *Equus* som betyr hest, og *setum* som betyr børste eller stivt hår, og at *arvense* betyr åker. *Sylvaticum* i *Equisetum sylvaticum*, betyr skog.



Figur 3-1: Skogsnelle

Plantene som her er nevnt, hører til snellefamilien. De kjennes igjen ved at de har smale, regelmessig ledda og hule stengler. De enkelte leddene ser ut som om de er stabla oppå hverandre, og mellom disse sitter en tannete krans. Kransen er egentlig små blader og beskytter vekstsonen innenfor disse. I toppen av stengelen på *Equisetum*-artene sitter det en konglelignende del, omtalt som aks. I dette akset sitter sporehusene i kranser på

undersiden av egne små, skjoldforma blad. Noen av trekkene som her har vært omtalt, har det vært mulig å spore langt tilbake i tid, og en regner med at planter av den typen som det her er snakk om, hadde sin storhetstid for omkring 350 millioner år siden. Den gangen var det helt andre dimensjoner over vekster av denne typen enn det en finner i dag. Noen arter kunne bli opp mot 30 meter.

Dersom en tar turen ned på bakkenivå igjen til åkersnella, finner en at denne planta trives godt på dyrka jord, i veikanter og i hager. Den kan være et vanskelig ugrass å bli kvitt fordi jordstengelen ligger forholdsvis dypt. Leirjord er favoritten til denne planta som forøvrig har vært observert opp til 1600 meter over havet. Den finnes i hele Norden og er også å finne ellers på den nordlige halvkule. Skogsnella trives, som navnet tilsier, best i skogsterreng. Arten er vidt utbredt over hele landet. (Ryvarden, 1993; Lindman, 1977)



Figur 3-2: Åkersnelle

Grunnen til at kjerringrokk er såpass kjent blant folk flest, henger trolig sammen med betydningen denne planta har hatt og fortsatt har i folkemedisinen. Kjerringrokk har vært brukt mot nær sagt alle slags onder. Alt fra urinveissykdommer og mageonder til nervøsitet og slapphet har vært forsøkt helbreda ved inntak av av kjerringrokkte. Mange forskere har latt seg inspirere av de tilsynelatende mange gode egenskapene til kjerringrokk, og en har funnet ut en del om denne arten gjennom moderne forskning.

Åkersnelle (europeisk) er rik på mineraler og da særlig silisium. Sistnevnte mineral vil bli omtalt seinere. Mengden mineraler i planta kan overstige 10 prosent av total vekt. I tillegg til mineralene finnes det en del flavanoider og da særlig quercetin 3-O- β -D-glucopyranosid og malonylestere av denne, quercetin 3-O-sophoroside, genkwanin og protogenkwanin 4'-O- β -D-glucopyranoside (Bisset og Wichtl, 2001). Forekomsten av ulike flavanoider varierer med hvilken del av livet planta befinner seg i, og mengden av disse er avhengig av ulike miljøfaktorer som tilgangen på lys og vann (Bruneton, 1999). Videre er det funnet spor av alkaloider, deriblant nikotin og spermidin og i tillegg polyumettede fettsyrer og dikarboksylyrer (equisetolsyre). Selvfølgelig finnes det også en mengde sukker, for eksempel sakkarose, glukose, fruktose og laktose (Bisset og Wichtl, 2001).

Noen av innholdstoffene i kjerringrokk har en viss hemolytisk aktivitet. Det har vist seg at dette henger sammen med en kombinasjon av fettsyrer (for eksempel palmitic acid) og fytosteroler (Bisset og Wichtl, 2001).

Videre er det også gjort forsøk som viser at alkoholuttrekk av åkersnelle inneholder stoffer som har analgetisk effekt i modellforsøk der forsøksdyr påføres smerte ved injeksjon av kjemikalier. Dette er ikke tilfellet dersom smerte påføres i modellforsøk der en bruker varme. Mekanismen for den analgetiske effekten er fortsatt uklar, men en regner med at det er både en perifer og en sentral faktor inne i bildet. Forsøket viste også at opioidsystemet mest sannsynlig ikke var involvert i smertelindringen. Ekstraktene viste i tillegg til det som er nevnt, klare antiinflammatoriske egenskaper. Flavanoider, steroler

og også saponiner og tanniner blei foreslått å være til en viss grad involvert i de analgetiske og antiinflammatoriske effektene som blei observert under forsøkene.

(Do Monte *et al.*, 2004).

Det finnes to former for silisium som trolig er viktige i en biologisk sammenheng. Den ene er en monomer, kiselsyre med et silisiumatom omgitt av fire hydroksylgrupper i tetraederstruktur. Formelen for dette molekylet er Si(OH)_4 , (Perry og Keeling-Tucker, 1998) en svak syre med pKa på 9,8 (Perry og Keeling-Tucker, 2000). Den andre formen for silisium går under navnet amorft silika og har formelen $\text{SiO}_n(\text{OH})_{4-2n}$ hvor $n = 2 - 4$. Silisium på formen Si(OH)_4 finnes ikke i store mengder i naturen, men det er estimert at det finnes 20-600 μM i ferskvann, 10 μM i saltvann og 0,1-1,5 μM i jord. (Perry og Keeling-Tucker, 1998).

Blant plantene som er studert, er det ingen som inneholder så mye silisium som kjerringrokk. Hvordan er så silisium fordelt i planta? Det har vært gjort forsøk der en har undersøkt dette ved hjelp av elektronmikroskop (Holzhüter *et al.*, 2003). Stilken og bladene blei undersøkt for silisiumstrukturer, og en kom fram til at silisium befant seg hovedsaklig som et tynt lag på overflaten av disse plantedelene. Ved å ta i bruk ulike elektronmikroskopteknikker fant en ut at silisiumlaget varierte i tykkelse alt etter hvor på planten det blei foretatt undersøkelser. Silisiumlaget varierte i tykkelse fra 3 μm til 7 μm i stilken og fra 200nm til 1 μm i bladene. Det kom etter hvert fram at for å beskrive silisiumlaget bedre måtte det deles opp i tre deler, et ytterlag, et mellomlag og et innerlag. De ulike lagene bar preg av å skulle kunne utføre ulike oppgaver.

Det ytre laget, som er den delen som er mest utsatt for skader og brukes under utveksling av blant annet vann, var tynt og ikke spesielt kompakt i formen.

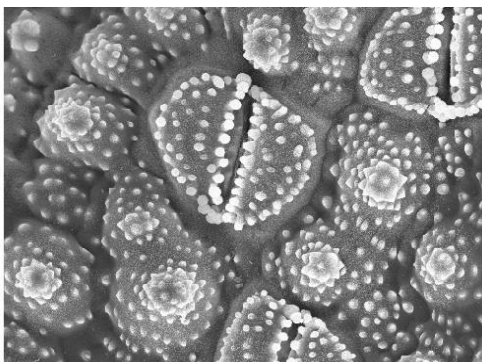
Silisiumlaget i midten var mer kompakt enn ytterlaget. Dette kan være med på å gjøre planta stivere og samtidig holde unna dyr som kan være skadelig for planta. Det blei også oppdaget hulrom og kanaler i dette laget og det blei antydning at dette kunne være et resultat

av organisk matriks i samspill med silisium. Trolig er det den organiske delen som virker som en mal for hvordan silisiumpartiklene skal organiseres.

Det innerste laget hadde en løsere struktur av separate partikler. Disse partiklene hadde hovedsaklig to størrelser, hvorav de største var på omtrent 60 nm i diameter og de minste rundt 8 nm i diameter. Det blei foreslått at dette laget var stedet for en akkumulering av silisium for videre omdanning og bruk i de ytre silisiumlagene. (Holzhüter *et al.*, 2003).

Som nevnt tidligere i denne oversikten, har det kommet fram en del informasjon som kan tyde på at oppbyggingen av silisiumkonstruksjoner i celler styres av organiske molekyler. Som kjent, finnes det mange eksempler på spesialiserte uorganiske forbindelser i levende vesener. En trenger ikke lete lenger enn til mennesket for å finne utstrakt bruk av ulike mineraler for å bygge opp kroppsdelene som bein og tenner.

Felles for de uorganiske strukturer som her er nevnt, er ofte forekomsten av makromolekyler sammen med biomineralene. Makromolekylene har blitt tillagt egenskaper som formgivere av biomineralstrukturen og samtidig også modifikatorer av de biomekaniske egenskapene. Det har vært foretatt en klassifisering av de omtalte makromolekylene, og utfallet blei gruppene ”rammeverk makromolekyler” og ”makromolekyler med syreegenskaper”. Som et eksempel på ”rammeverk makromolekylene” finner en for eksempel collagen, chitiner og chitin-protein komplekser. Dette er materialer beregna til å modifisere de mekaniske egenskapene til sluttproduktet. Det er makromolekylene med syreegenskaper, for eksempel glykoproteiner og proteoglykan, som en regner med er ansvarlige for biomineralbygging, og i kjerringrokkestrakter har en funnet proteinmateriale knytta til silisium. Også en annen type makromolekyler enn de som til nå har vært nevnt, har vært knytta til kontroll av silisiumstrukturer i kjerringrokk. I modellforsøk har polymere av glukose og hemicellulose fra kjerringrokkestrakt hatt innvirkning på partikkelvekst og aggregering av silisiumholdige partikler. (Perry og Keeling-Tucker, 2000).



Figur 3-3: Silisiumstrukturer i *Equisetum arvense*. Bildet er tatt med elektronmikroskop (x 950). (Currie *et al.*)

Forsøk har blitt gjort for å vise at karbohydrater fra cellevegg i kjerringrokk er nært knytta til silisiumstrukturer i planta. Det blei foretatt ekstraksjon av karbohydrater som så blei undersøkt for innhold av silisium. Ved hjelp av blant annet "Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy" (ICP-AES) og "molybdenum blue assay" kom en fram til at det fantes både mono-, dimere- og polyformer av silisium til stede i planteekstraktene. (Currie *et al.*).

Det har vært foreslått mange områder der silisium kan spille inn som en viktig faktor. Her følger en liten oversikt over noen interessante temaer.

I dyr som rotter og kyllinger har det vist seg at silisium er viktig med tanke på både normal vekst og normal utvikling av skjelettet. I forsøk der disse dyra blei gitt silisiumfattig kost førte det til avvik i normal vekst og beinformasjon. Silisium har blitt lokalisert i vekstsoner i bein fra mus og rotter og det har vist seg at silisium kan være med på å både øke kalsiuminnholdet i bein og øke hastigheten på beinmineraliseringsprosessen. Det har også kommet fram at i tillegg til effektene silisium har på beinformasjon, vil en diett med lite innhold av silisium kunne føre til abnormal utvikling av blant annet kollagen og bindevevsstrukturer. (Perry og Keeling-Tucker, 1998).

Forskning har vist at eldre, demente pasienter (alzheimergruppen inkludert) har forhøyede aluminiumverdier i serum og urin i forhold til friske personer. Demente

pasienter later til å absorbere mer aluminium fra vanlig mat enn friske personer. Faktisk fikk disse pasientene like mye aluminium i seg gjennom vanlig matinntak som pasienter som fikk behandling med 3 gram aluminiumhydroksid daglig. Forklaringen på dette fenomenet kan være knyttet til sykdomsbildet hos demente, men det er også mulig at det rett og slett henger sammen med prosesser knyttet til aldring. I denne sammenhengen er det interessant å merke seg at den økte forekomsten av aluminium i urin hos demente sammenfaller med en økt silisiumutskillelse. Dette kan være med på å underbygge teorien om at høy silisiumutskillelse i urin kan være med på å øke utskillelsen av aluminium. Dannelsen av aluminosilikater vil trolig kunne redusere reabsorpsjon av aluminium. (Roberts, 1998).

I flere prosjekter har en sett på om inntak av silisium kan være hensiktsmessig ved problemer i mage- og tarmregionen. Det har blant annet vært gjort forsøk med produktet "Sikapur" som inneholder kiselsyre (Messerich, 1976). Pasientene hadde ulike plager som for eksempel "smerter/trykk i epigastrium", "kvalme/oppkast", "diare" og "flatulens". Totalt var det 74 pasienter med i undersøkelsen, som varte i 14 dager. Da forsøket var over, viste det seg at 76 % av pasientene hadde hatt god, eller meget god, effekt av behandlinga. Kun 8 prosent av pasientene kunne sies å ha fått utilfedsstillende effekt av behandlingsopplegget. Det blei ikke påvist negative effekter ved inntak av produktet. Det konkluderes i studien med at produktet som blei undersøkt, var interessant og kunne benyttes ved egenbehandling av ulike gastrointestinale plager.

Effekten ved inntak av produktet "SILICOL" (inneholder silisium) hos pasienter med dyspepsi uten magesår, har også blitt studert (Thom, 1996). 30 pasienter var med i prosjektet. Det blei observert reduksjon i graden av halsbrann og oppkast, kvalme, magesmerter og ubehag. Frekvensen av halsbrann og oppkast blei i tillegg redusert. Ved skifte fra "SILICOL" til placebo økte graden av dyspeptiske symptomer og bruken av antacida gikk opp. Det motsatte skjedde dersom pasientene fikk "SILICOL" etter først å ha fått placebo. Prosjektleder konkluderte likevel med at det ikke var en statistisk signifikant bedring hos de pasientene som fikk "SILICOL".

Det har også vært utført en studie der en har sett på effekten av kiselsyre på hud, hår og negler (Lassus, 1993). I denne studien har testpersonene inntatt silisium i form av kiselsyre og i tillegg påført huden nevnte stoff. 50 kvinner med ikke helt ung hud, litt tynt og sprøtt hår og sprø negler blei tatt med. I løpet av en tre måneders periode blei det observert god effekt av tilførselen av "SILICOL" på hud, hår og negler. Det blei likevel rapportert om tørr hud etter utvortes bruk av "SILICOL" og ikke signifikant endring i tykkelsen av epidermis eller bedring av hudelastisiteten. Det blei imidlertid observert en signifikant økning i tykkelsen av dermis. Studien blei utført som en åpen, ukontrollert studie, og en mulig effektendring er kun relatert til status ved startpunktet. I artikkelen konkluderes det med at forsøkspersonene hadde god effekt av kiselsyra og at videre behandling trolig ville føre til enda bedre resultater.

Effekten av silisium i "SILICOL" har også vært vurdert i behandlinga av personer med psoriasis. I en finsk undersøkelse tar en for seg psoriasispasienter med forskjellige typer hudlesjoner, deformerte negler og leddproblemer (Lassus, 1992). Studien skal ha foregått om sommeren, og forfatteren trekker den slutningen at ulike forbedringer som blei observert under behandlinga kan være like relatert til sol som produktet som testes ut. Uansett kom det fram at neglestrukturen hos psoriasispatientene blei bedre, og at dette trolig skyldes silisium, da en normalt ikke får en bedring av negletilstanden ved hjelp av sol.

I en annen studie ser en på effekten av "SILICOL" gel på pasienter med kronisk "plaque" type psoriasis (Lassus, 1997). Totalt 30 pasienter var med i undersøkelsen, som var utført som en randomisert, dobbel blind studie. Pasientene som fikk silisium, inntok 30 ml silisiumsyre gel og appliserte samme gel på utslettet. Placebogruppa fikk samme behandling med placebo gel. Etter at studien hadde pågått i 3 måneder, konkluderte forfatteren med at resultatene som kom fram var lovende, men at det var for få pasienter med i prosjektet til å trekke noen endelige slutninger.

Vanlig bruk av kjerringrokk

Kjerringrokk inntas normalt som te. Tilbereding kan foregå omtrent på samme måte som beskrevet seinere i denne oppgava.

4. TEORI

4.1 MIKROBØLGEDEKOMPONERING AV PRØVEMATERIALE

Mikrobølgeovnen brukt i denne oppgava består av selve mikrobølgeovnen med rotor og plass til medfølgende prøvebeholdere og dessuten en separat viftekomponent.

Mikrobølger er elektromagnetiske svingninger som blant annet setter vannmolekyler i bevegelse. Mikrobølgene får molekylene til å rotere med så stor hastighet at det dannes varme. Dette skjer ved at det elektriske feltet som genereres i mikroovnen, hele tida skifter polaritet. Vannmolekylet, som er en dipol, vil dermed snu seg raskt fram og tilbake.

Mikrobølgene blir dannet av en såkalt "magnetron" i ovnen. Ovnens metallvegger reflekterer mikrobølgene tilbake til ovnens senter slik at de varmer opp prøvematerialet. Fordelene ved bruk av det mikrobølgeovnutstyret det her er snakk om, i forhold til konvensjonell oppvarming med for eksempel ovn, varmemantel eller plate, er mange. Det kan blant annet nevnes at siden mikrobølger som dannes i en mikrobølgeovn, trenger gjennom glass, papir, plast og lignende materialer, vil energien som dannes, bli brukt til å varme opp innholdet i prøvebeholderne og ikke prøvebeholderne. Dette resulterer i en mye raskere oppvarming enn ved konvensjonelle oppvarmingsmetoder, og prøveopparbeidelsen tar kortere tid.

Videre kan det nevnes at siden det opereres med lukkede beholdere, vil en kunne holde høyere temperatur på prøven før den koker. Mange syrer vil dessuten vise bedre oksidasjonsegenskaper ved høye temperaturer. Beholdere som følger med mikrobølgeovnen, er utstyrt med overtrykksventil som åpnes og lukkes raskt dersom gasstrykket blir for stort.

En annen fordel med mikrobølgeovnbruk er det lave forbruket av kjemikalier. Ved konvensjonell oppvarming er en avhenging av nokså store mengder

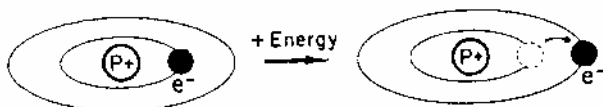
dekomponeringsreagenser. Hvis en i tillegg må etterfylle med kjemikalier under dekomponeringen, er det klart at bruk av mikrobølgeovn vil være å foretrekke.

4.2 ATOMABSORPSJONSSPEKTROMETRI

Atomabsorpsjonsspektroskopi (AAS) er en av i alt tre metoder som faller inn under begrepet atomspektroskopi, og det er denne teknikken som vil bli omtalt her. For å forstå grunnlaget for anvendelsen av AAS er det nyttig å klargjøre relevant atomteori.

Atomer

I AAS er det frie atomer og deres evne til å absorbere energi i form av elektromagnetisk stråling som er interessant. Frie atomer består av en kjerne omgitt av elektroner i ulike orbitaler. Orbitalene er et uttrykk for ulike energinivåer som elektronene befinner seg i, og normalt vil elektronene befinne seg i de orbitalene som har lavest energi. Men dersom en tilfører energi til det frie atomet, kan noen av elektronene tilhørende atomet overføres til en orbital med høyere energinivå (se figur 4-1).



Figur 4-1

I AAS er denne energien gitt i form av elektromagnetisk stråling fra ei hulkatodelampe. Energiabsorpsjonen elektronene står for svekker intensiteten av lyset fra hulkatodelampa, og dette kan måles og settes i sammenheng med mengden atomer i en prøve og gir følgelig grunnlag for kvantitative målinger med AAS. Loven som benyttes for å beskrive denne sammenhengen omtales som Beers lov.

Beers lov

$$A = \log(I_0/I) = a b c$$

A = absorbans

I_0 = intensiteten av lys som sendes inn mot flammen

I = intensiteten av lyset etter passasje gjennom flammen

a = absorpsjonskoeffisient for grunnstoffet ved den aktuelle bølgelengde

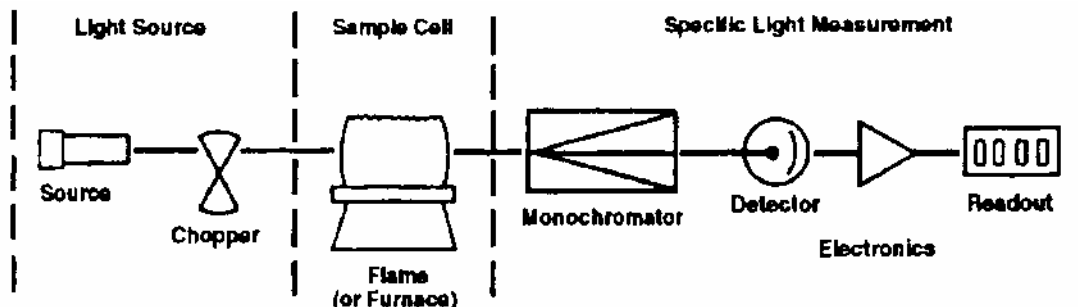
b = lengde av lysveien gjennom flammen

c = totalkonsentrasjonen av det aktuelle stoffet i prøveløsningen

Dersom Beers lov gjelder, er absorbansen (A) og konsentrasjonen (c) av grunnstoff i prøveløsningen proporsjonale størrelser. Følgelig kan en ved å måle absorbansen til standardløsninger av et gitt grunnstoff, sette opp en standardkurve med absorbans som funksjon av grunnstoffkonsentrasjon. Absorbansen til prøver med ukjente konsentrasjoner av samme grunnstoff kan deretter måles, og ved hjelp av standardkurven kan en bestemme mengden stoff i prøvene.

Instrumentet

Atomabsorpsjonsspektrometeret består grovt sett av delene på figuren under.



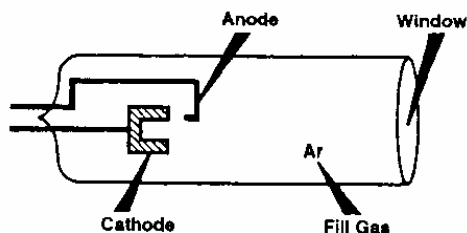
Figur 4-2: Atomabsorpsjonsspektrometer

Virkemåte

Det første som skjer med prøven som introduseres i apparatet, er atomisering ved hjelp av en flamme.

Atomisering

Før absorbansen for ei prøve kan måles, må molekylene i prøva konverteres til frie atomer. Dette blir ved AAS gjort ved å tilføre store varmemengder til prøveløsningen. Først utføres en såkalt forstøvning av prøva. Prøveløsningen suges inn i en såkalt forstøver og omdannes til en aerosol blandet med, i dette tilfellet, N_2O . Videre blandes dette igjen med acetylen i et blandekammer og føres inn i flammen. I flammen fordamper løsemiddelet raskt grunnet den høye temperaturen, og prøvematerialet omdannes til små, faste partikler. Disse partiklene smelter og fordamper deretter i flammen. Prøvematerialet er nå i gassfase og konverteres videre til frie atomer ved at de kjemiske bindingene brytes. Atomene som dannes, vil stort sett ha elektroner som befinner seg i de orbitalene med lavest energi. Disse vil kunne eksiteres av lyset som sendes gjennom flammen.



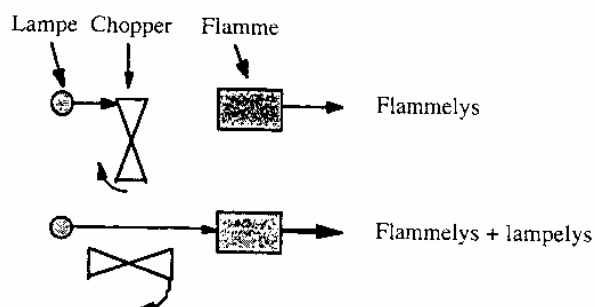
Figur 4-3: Hulkatodelampe

Lampe

Lampene som benyttes ved AAS, er som regel hulkatodelamper (se figur 4-3). Det finnes en slik lampe for hvert grunnstoff som ønskes bestemt. Lampene sender ut lys ved de bølgelengdene hvor frie atomer av det grunnstoffet det analyseres på, absorberer lys.

Chopper

Når lyset fra lampen skal måles, er det viktig å kunne skille mellom lys generert i flammen og lyset fra hulkatodelampa, siden det er sistnevnte lys som blir brukt til å beregne absorbans. Dette løses ved å benytte en såkalt "chopper" (se figur 4-4). Denne delen av instrumentet roterer og består av en rund skive med med fire sektorer; to åpne og to tette. Når chopperen stopper lyset fra lampen, måles lyset fra flammen, og når chopperen er åpen, vil både lys fra flamme og lampe bli målt.



Figur 4-4: Chopper

Flamme

I flammen foregår atomiseringen som omtalt ovenfor.

Monokromator

Før lyset som stammer fra flammen og hulkatodelampa måles, blir de bølgelengdene som ønskes målt, selektert ut ved hjelp av en monokromator.

Detektor

I detektoren måles intensiteten av lyset fra hulkatodelampa etter at det har passert gjennom flammen (I). Dette lyset sammenlignes så med den opprinnelige styrken på lyset (I_0), og absorpsjonen regnes ut.

5. EKSPERIMENTELT

5.1 KJEMIKALIER, GASS OG UTSTYR

Tabell 5-1: Kjemikalier

Kjemikalie	Kvalitet	Leverandør
Diklormetan	Pro analysi	PROLABO
Etanol	96 %	Arcus
Flussyre 38-40%	Pro analysi	MERCK
Heksan	HPLC grade	Rathburn chemicals LTD
Hydrogenperoksyd 35 %	Purum	KEBO Lab
Kaliumhydroksid	Purum	Elektrokemiska Aktiebolaget
Metanol	Pro analysi	MERCK
Natriumhydroksid	Pro analysi	MERCK
Salpetersyre 65%	Pro analysi	MERCK
Saltsyre	Pro analysi	MERCK
Silisiumstandard	1000 mg/l Si	Teknolab
Vann	Destillert	Eget anlegg
Annet:		
Referansemateriale	NCS Certified Reference Material: Poplar leaves	Approved by China National Analysis Center for Iron and Steel, Beijing, China 1997
Plantemateriale fra NMD		Norsk Medisinaldepot

Tabell 5-2: Gass til AAS

Gass	Kvalitet	Leverandør
Acetylen	>98 %	AGA
Luft	Ren og tørr	AGA
N ₂ O	Teknisk	AGA

Tabell 5-3: Utstyrliste

Utstyr	Modell	Produsent
Atomabsorpsjonsspektrometer	Spectr AA-10	Varian Techtron Pty. Limited, Australia
Elektrisk kutter for oppmaling av plantemateriale	IKA® All basic	IKA®-WERKE GmbH & Co. KG, STAUFEN
Mikrobølgeovn	MLS-1200 MEGA	Milestone, Italia
Mikrobølgeovnvifte	ECM-30 Exhaust/Capping Module	Milestone, Italia
Muffelovn	Logotherm L3/S17	Nabertherm®, Tyskland
Vannbad	Precisdig	J.P. Selecta, s.a., Spania

5.2 STAMLØSNINGER OG STANDARDLØSNINGER

Stamløsning av silisium (1000 mg/l) blei kjøpt inn fra TeknoLab.

Tillaging av standarder til bruk ved analyse av vannuttrekk, totalinnhold av silisium, deler av fraksjonsanalysen og måling av silisium i brød: Standardløsningene blei laga ved å fortynne uttak av stamløsningen med vann og flussyre til ønsket konsentrasjon (se tabell 5-4). Det blei tilsatt flussyre tilsvarende 2 ml per 100 ml ferdig standardløsning.

Tabell 5-4

Konsentrasjon i mg/l	Fremgangsmåte	Totalt antall ml
10	5 ml stamløsning blei tilsatt 10 ml flussyre og fylt til merket med vann	500
25	25 ml av 50 mg/L løsning blei tilsatt 0,5 ml flussyre og fylt til merket med vann	50
50	25 ml stamløsning blei tilsatt 10 ml flussyre og fylt til merket med vann	500
100	50 ml stamløsning blei tilsatt 10 ml flussyre og fylt til merket med vann	500

Tillaging av 2 M KOH-løsning: 56,108 g fast KOH blei løst i 500 ml vann

Tillaging av standarder til KOH fraksjon: Standardløsningene blei laga ved å fortynne uttak av stamløsningen med 50 ml 2M KOH og fylle til merket med vann. Blankløsningen blei laga ved å blande vann og 2 M KOH (se tabell 5-5).

Tabell 5-5

Konsentrasjon i mg/l	Fremgangsmåte	Totalt antall ml
0	50 ml 2 M KOH løsning blei blanda med 50 ml vann	100
10	1 ml stamløsning blei tilsatt 50 ml 2 M KOH og fylt til merket med vann	100
25	2,5 ml stamløsning blei tilsatt 50 ml 2 M KOH og fylt til merket med vann	100
50	5 ml stamløsning blei tilsatt 50 ml 2 M KOH og fylt til merket med vann	100
100	10 ml stamløsning blei tilsatt 50 ml 2 M KOH og fylt til merket med vann	100

Alt utstyr som var i kontakt med kjemikaliene, var av plast eller metall.

5.3 BEHANDLING AV PLANTEMATERIALET FORUT FOR FORSØKENE

Plantematerialet fra NMD blei hakka opp ved hjelp av elektrisk kutter og sikta (30 mesh) før det blei brukt i forsøkene.

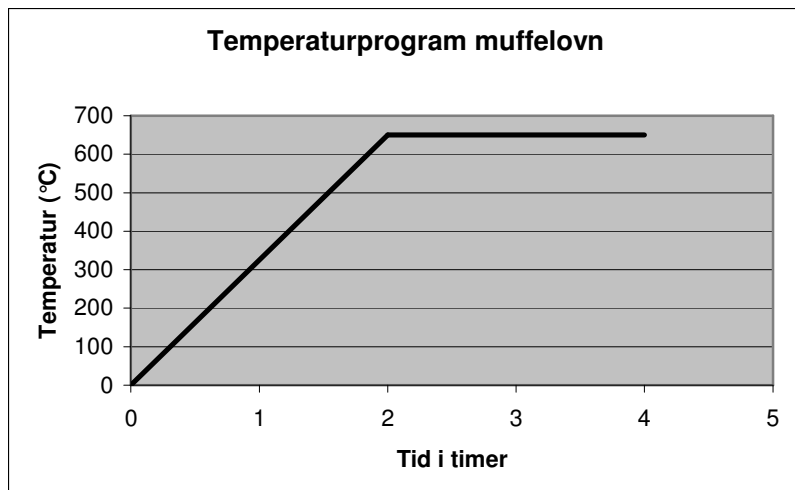
Fritt voksende plantemateriale som var innhenta blei tørka og deretter hakka opp tilsvarende som for varen fra NMD og deretter sikta (30 mesh).

Tabell 5-6: Planter fra Norge

Planter fra Norge	Funnet	Funnsted
Skogsnelle	18/5 -00	Bakk i Sørkedalen
Skogsnelle	26/6 -00	Bakk i Sørkedalen
Skogsnelle	10/9 -00	Bakk i Sørkedalen
Åkersnelle	18/5 -00	Bakk i Sørkedalen
Åkersnelle	18/5 -00	Bakk i Sørkedalen
Åkersnelle	26/6 -00	Bakk i Sørkedalen
Skogsnelle	15/6 -04	Rakkestad

5.4 INNLEDENDE FORSØK MED MUFFELOVN

Tidlig i forsøkene på å bestemme totalmengden av silisium, blei det utført forsøk med en såkalt muffelovn. Dette foregikk ved at 0,5 gram av opphakka plantemateriale (sikta mesh 30) blei veid inn og lagt i nikkeldigler. Sammen med plantematerialet blei det lagt ned 1 gram natriumhydroksid. Dette blei så blanda sammen og satt inn i ovnen. Det anvendte temperaturprogrammet var som vist under (figur 5-1).



Figur 5-1: Temperaturprogram for muffelovn

Etter avkjøling blei innholdet i diglene løst i 100 ml vann og 25 ml HCl i et målebeger. Dette blei så overført til en 500 ml målekolbe og konsentrasjonen av silisium blei målt ved hjelp av AAS.

Det oppstod noen problemer i denne prosessen. Det viste seg at det var vanskelig å få løst opp materialet i nikkeldiglene etter tørrforaskinga, og resultatene som blei observert under måling med AAS, gav indikasjoner på at metoden ikke var optimal. Det blei derfor valgt å gå bort fra bruk av muffelovn i prøveopparbeidelsen.

5.5 EKSTRAKSJON MED VANN

1 gram tørt materiale blei veid inn i fem 250 ml erlenmeyerkolber. 10 ml vann blei tilsatt med pipette for å få med materiale som eventuelt satt på kolbeveggene. Kolbene blei deretter satt ned i et kokende vannbad. 40 ml kokende vann blei så tilsatt ved hjelp av målesylinder. Overflaten av vannet i kolbene var under vannspeilet i vannbadet. Deretter fikk kolbene med innhold stå i 10 minutter med urglass. Etter 5 minutter ved romtemperatur blei innholdet filtrert over i 100 ml målekolber. Erlenmeyerkolbene og filterene blei deretter vaska med kaldt vann til målekolbene var om lag $\frac{3}{4}$ fulle. Innholdet i målekolbene fikk deretter avkjøle seg til romtemperatur før det blei fylt til merket med vann. (Bye). Silisiumkonsentrasjonen blei deretter målt med AAS (se seksjon 5.10). Alt utstyr som var i kontakt med prøvene, var av plast eller metall. (Resultater: se seksjon 6.1)

5.6 BESTEMMELSE AV TOTALINNHOLD AV SILISIUM

Oppmalt plantemateriale (sikta 30 mesh) blei veid inn (om lag 0,3 gram) og overført til seks mikrobølgeovnbeholdere. Salpetersyre, hydrogenperoksid og flussyre blei tilsatt, og denne blandinga blei satt i mikrobølgeovnen for nedbrytning (se seksjon 5.9). Etter avkjøling til romtemperatur blei innholdet i mikrobølgeovnbeholderne overført til 100 ml målekolber og fylt til merket med vann. Silisiumkonsentrasjonen blei deretter målt med AAS (se seksjon 5.10). Denne prosedyren blei også brukt til å bestemme konsentrasjonen av silisium i referansematerialet. Alt utstyr som var i kontakt med selve prøvematerialet, var av plast, metall eller teflon. (Resultater: se seksjon 6.1).

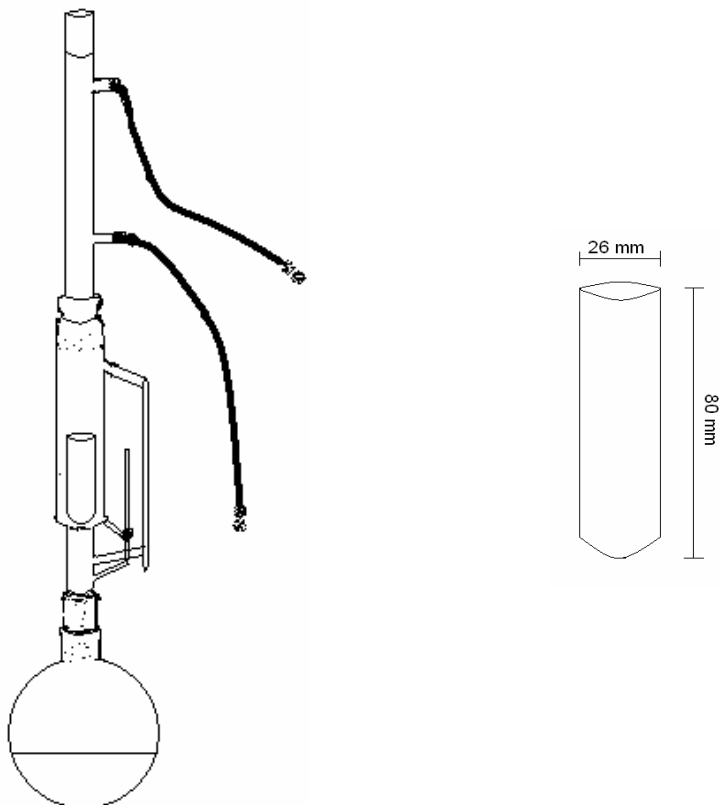
5.7 FRAKSJONSANALYSE

Størsteparten av fraksjonsanalysen blei utført ved hjelp av soxlet-ekstraksjon (se figur 5-2) som utnytter både destillasjon- og hevertprinsipper. Ved hjelp av dette utstyret blir det aktuelle løsemiddelet sendt flere ganger gjennom prøvematerialet som befinner seg i en beholder av papp (se figur 5-2) tilpasset oppsettet. Det blei valgt ut 4 løsemidler til denne delen av forsøket og disse var hver i kontakt med prøvene i 3 timer før det blei byttet til neste løsemiddel. Rekkefølgen av løsemidlene var etter økende polaritet:

Tabell 5-7

Løsemiddel	Mengde i ml	Tid i timer
Heksan	90	3
Diklormetan	90	3
Etanol	90	3
Metanol	90	3

(Resultater: se seksjon 6.2)



Figur 5-2: Tegning av oppsett

De ulike fraksjonene blei overført til teflonbeholdere tilpasset mikrobølgeovnen, og løsemidlene dampa av i vannbad. Det materialet som var igjen etter denne prosessen, blei deretter behandla på samme måte som beskrevet under bestemmelse av totalinnhold av silisium i plantematerialet. Salpetersyre, flussyre og hydrogenperoksyd blei tilsatt og blandinga satt i mikrobølgeovnen for nedbrytning (se seksjon 5.9). Etter avkjøling til romtemperatur blei stoffet i mikrobølgeovnbekholderne overført til 100 ml plastkolber, fylt til merket med vann og konsentrasjonen av silisium målt med AAS (se seksjon 5.10).

Ekstraksjon med kaliumhydroksid fulgte en annen prosedyre enn beskrevet ovenfor. Plantematerialet blei veid inn i 100 ml erlenmeyerkolber av plast, tilsatt 90 ml 1 M kaliumhydroksid og satt ned i kokende vannbad i 3 timer. Etter avkjøling til romtemperatur blei innholdet filtrert over i 100 ml målekolber av plast og fylt til merket med vann. 25 ml av dette blei vidare tatt ut og tilsatt 25 ml 1 M kaliumhydroksid. Til slutt blei innholdet av silisium målt ved hjelp av AAS (se seksjon 5.10). (Resultater: se seksjon 6.2)

5.8 ANALYSE AV BRØD

Innhold i brød:

Hvetemel

Vann

Sammalt hvete 44 %

Rugmel

Sirup

Gjær

Melkefri margarin

Havrekli

Salt

Fiber av sukkerroer

Konserveringsmiddel E282

Stabilisator E412

Emulgator E471

Vegetabilsk olje

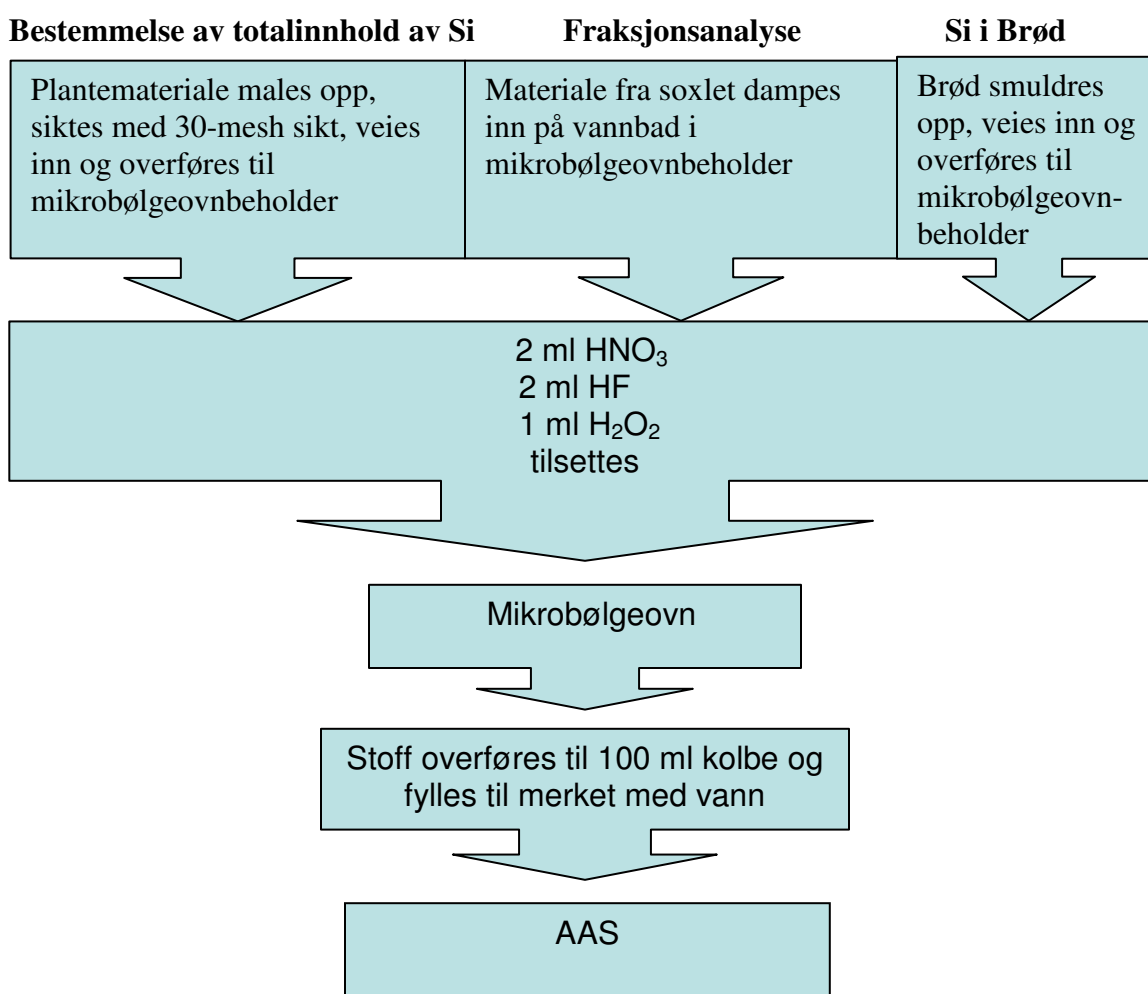
Melbehandlingsmiddel E 300

Framgangsmåte for måling av silisium i brød:

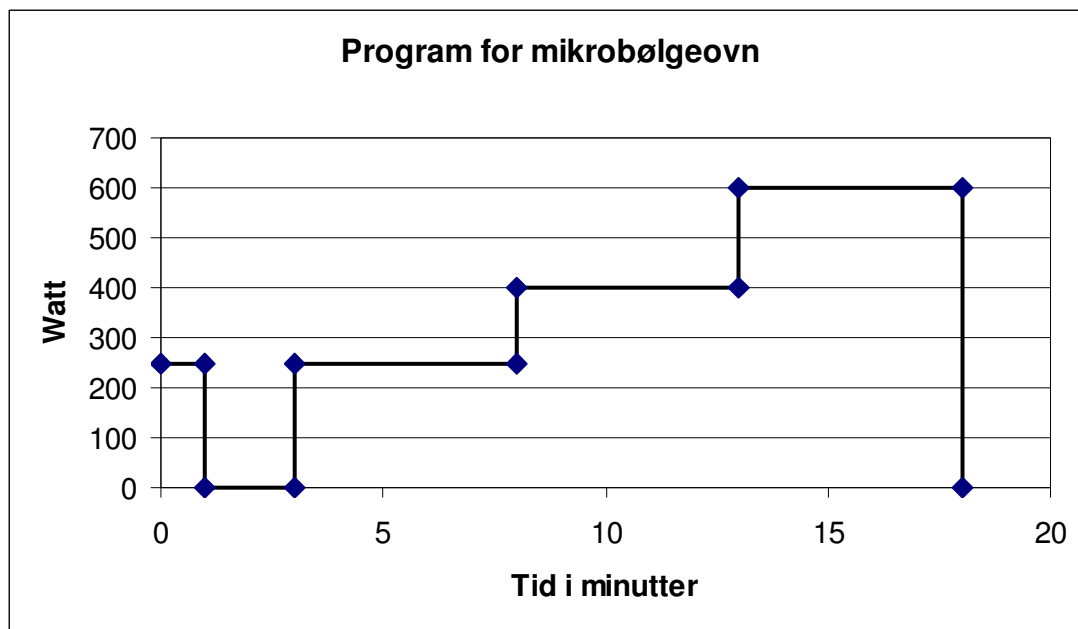
Ei brødslike blei veid og deretter smuldra opp til smuler. En mengde smuler tilsvarende om lag 0,4 gram blei deretter veid inn og lagt i seks mikrobølgeovnbeholdere. Salpetersyre, hydrogenperoksid og flussyre blei tilsatt og denne blandinga blei satt i mikrobølgeovnen for nedbrytning (se seksjon 5.9). Etter avkjøling til romtemperatur blei silisiumkonsentrasjonen målt med AAS (se seksjon 5.10). (Resultater: se seksjon 6.3).

5.9 MIKROBØLGEDEKOMPONERING AV PRØVEMATERIALE

Under fraksjonsanalysen, bestemmelsen av totalinnhold av Si i plantematerialet og referansematerialet og undersøkelsen av silisiuminnhold i brød blei mikrobølgeovn tatt i bruk under prøveopparbeidelsen. Utførelsen av dette var nesten identisk for de tre ovennevnte analysene (se figur 5-3). Mikrobølgeovnprogrammet som blei valgt foreligger på figur 5-4 og tabell 5-8.



Figur 5-3: Skjematisk oversikt over prøveopparbeidelsen



Figur 5-4: Mikrobølgeovnprogram

Tabell 5-8: Mikrobølgeovnprogram

Trinn	Minutter	Watt
1	1	250
2	2	0
3	5	250
4	5	400
5	5	600

Mikrobølgeovnprogrammet som brukes, er bygget opp for å passe til dekomponering av organiske prøver der en kan forvente raske eksoterme reaksjoner i innledende del av oppvarminga i mikrobølgeovnen. Programmet er et standardforslag for denne typen prøvemateriale fra "Milestone", produsenten av mikrobølgeovnen som benyttes i denne oppgava.

De ulike kjemikaliene og mengden av disse som benyttes, har også sin opprinnelse i forslag fra mikrobølgeovnfirmaet "Milestone". I tillegg til salpetersyre og

hydrogenperoksid blei det anbefalt å tilsette flussyre for å bryte ned silisiumholdige forbindelser fullstendig.

Nedbrytinga av planteprøvene i mikrobølgeovnen foregikk i ulike trinn med et gitt forhold mellom effekt og tid (se tabell 5-8). Her følger en forklaring til hva som skjer i de ulike trinnene:

- Trinn 1 : Oksidasjon av organisk materiale settes forsiktig i gang
- Trinn 2 : Mikrobølgeovnen venter i 2 minutter med en effekt på 0 watt etter at trinn 1 er ferdig. Dette gjøres for å unngå for kraftig temperaturutvikling og for høyt overtrykk i prøvebeholderne, fordi oksidasjonsprosessene selv er eksoterme
- Trinn 3 : Mer energi blir tilført
- Trinn 4-5: For å fullføre oksidasjonen av plantermaterialet tilføres enda mer energi de 10 siste minuttene

5.10 ATOMABSORPSJONSSPEKTROMETRI

Den samme AAS-metoden blei benytta etter alle prøveopparbeidelsesmetodene.

Tabell 5-9: Innstillinger på atomabsorpsjonsspektrometeret

Lampe	Si
Bølgelengde	251,6 nm
Spalteåpning	0,2 nm
Gass	N ₂ O, Acetylen, Luft
Flamme	N ₂ O-Acetylen
Acetylen flow	4,5
N ₂ O flow	5,7
Lampestrøm	10 mA
Antall målinger per prøve	3
Tid per måling	10 sekunder

Ved oppstart av AAS-instrumentet blei det foretatt en kontroll av at gassen fikk strømme fritt i brenneren, at det var vann i vannlåsen, at gasstilførselen var stabil, at oppsugingshastigheten av prøveløsningen var slik som ønska og at det ikke befant seg sotpartikler på brenneren. Dette blei gjort for å sikre stabile målinger.

Forut for hver prøveserie konstruerte instrumentet selv en standardkurve ved hjelp av standardløsningene. Deretter blei det foretatt målinger av prøvematerialet. Mellom hver måling av standardløsning og prøveløsning blei det sugd inn vann gjennom innsugslangen.

Etter at målingene var utført, blei det kjørt reint vann i apparatet for å fjerne eventuelle rester av stoff. Sotpartikler som lå i nærheten av brennerhodet, blei også fjerna.

5.11 PARTIELL VALIDERING

For å sikre at metoden for bestemmelse av totalinnhold av silisium i plantematerialet fungerte som den skulle, blei det utført en analyse av et sertifisert referansemateriale (“NCS Certified Reference Material, Poplar leaves, Approved by China National Analysis Center for Iron and Steel, Beijing, China 1997”) med kjent silisiuminnhold. Referansematerialet blei behandla på samme måte som beskrevet for bestemmelse av total mengde silisium i innsamla plantemateriale og plantemateriale fra NMD.

Lineariteten til standardkurven blei testet i området 0-100 mg/l silisium og følgende konsentrasjoner blei brukt: 10 mg/l, 25 mg/l, 50 mg/l og 100 mg/l. Linearitet beskriver metodens evne til å gi en respons som lineær funksjon av konsentrasjonen innafor et gitt område. Lineariteten beskrives ved hjelp av en regresjonslinje og en regresjonskoeffisient.

6. RESULTATER OG DISKUSJON

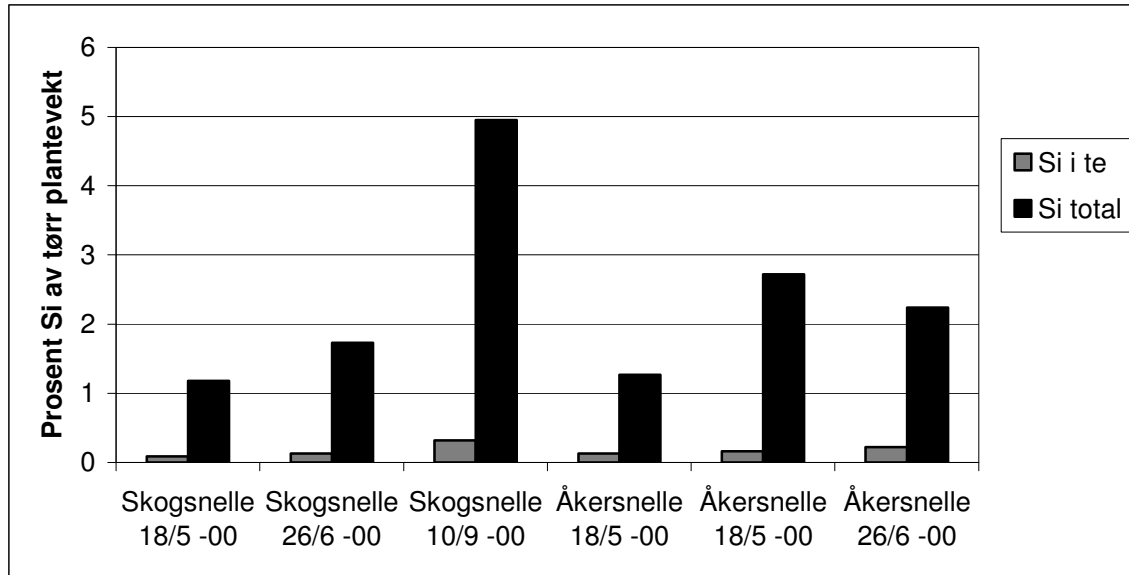
6.1 VANNLØSELIG OG TOTALT SILISIUMINNHOOLD I PLANTEMATERIALET

Her følger en oversikt over resultatene som kom fram da totalinnholdet av silisium i plantene blei bestemt samt hvor mye silisium som blei utvunnet fra et utvalg av plantene ved tillaging av te. Se tabell 6-1 og figur 6-1.

Tabell 6-1: Oversikt over innhold av silisium i planteprøvene (tørt materiale)

Nummer	Navn	Si vannuttrekk (te) %	Si total %	Vannuttrekk % av total Si
1	Referansemateriale*		0,66±0,06	
2	Materiale fra NMD	0,19±0,03	3,0±0,1	6,23
3	Skogsnelle (18/5 -00)	0,09±0,01	1,2±0,1	7,63
4	Skogsnelle (26/6 -00)	0,13±0,01	1,73±0,06	7,51
5	Skogsnelle (10/9 -00)	0,32±0,03	4,95±0,07	6,46
6	Åkersnelle (18/5 -00)	0,13±0,01	1,27±0,03	10,24
7	Åkersnelle (18/5 -00)	0,16±0,01	2,72±0,05	5,88
8	Åkersnelle (26/6 -00)	0,22±0,01	2,24±0,03	9,82
9	Skogsnelle (15/6 -04)		2,6±0,2	

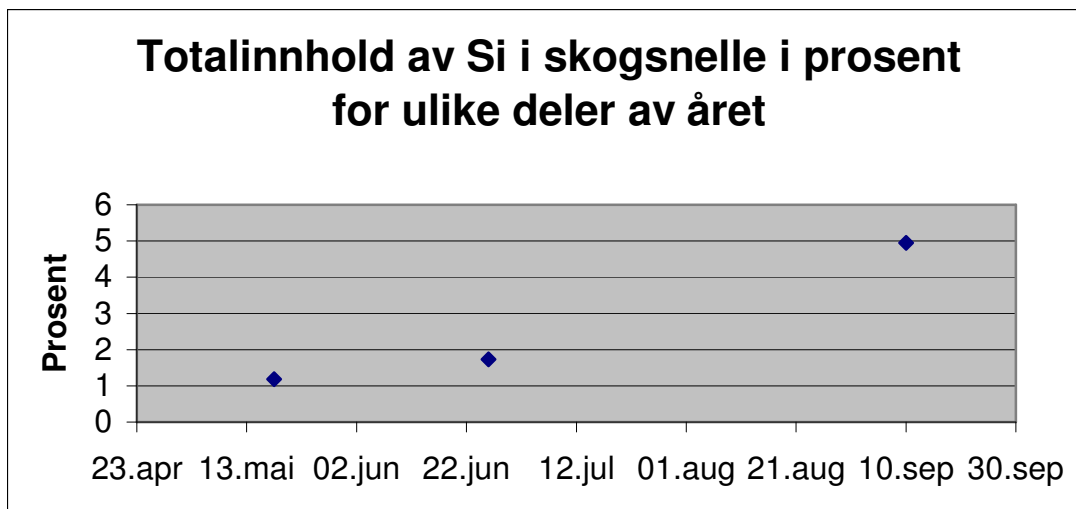
* Sertifisert verdi: 0,71±0,06 %



Figur 6-1: Grafisk framstilling av resultater gitt i tabell 6-1

Som det framkommer av tabell 6-1, inneholder de plantene som har vært med i forsøkene, forholdsvis store konsentrasjoner silisium. På det meste er det snakk om nesten 5 prosent av total vekt av planta (tørka), noe som stemmer godt overens med litteratur på området (Bisset og Wichtl, 2001). Størst silisiuminnhold av alle hadde skogsnelle funnet 10/9 -00 med 4,95 prosent. Dette er mer enn det en finner i varen fra av NMD. De åkersnellene som var med i denne oppgava, var også nær NMD sin vare med tanke på totalt silisiuminnhold. Det er viktig i denne sammenhengen å legge merke til at det ikke er data fra høstsesongen for åkersnellene. Dermed er det godt mulig at disse vekstene også overgår NMD sin vare i total mengde silisium i løpet av vekstsesongen. De verdiene som er samlet fra skogsnelle, kan i alle fall tyde på at akkumulering av silisium fortsetter gjennom hele sesongen (se figur 6-2).

Når det gjelder andelen av det totale silisiuminnholdet i plantene en får i seg ved tillaging av te, varierer den fra omtrent 6 prosent til 10 prosent. Det vil si at en ved tillaging av te får i seg nokså lite av det silisiumet som finnes i planta. Det kan være ulike forklaringer på hvorfor ikke mer silisium trekkes ut av plantematerialet. En forklaring kan være at silisium finnes på en form som ikke løses godt i vann. Resultatene fra fraksjonsanalysen kan være med på å underbygge den siste påstanden.



Figur 6-2: Totalinnhold av silisium i skogsnelle gjennom sesongen. Tallmateriale stammer fra skogsnelle (18/5 -00), skogsnelle (26/6 -00) og skogsnelle (10/9 -00)

6.2 FRAKSJONSANALYSE

Fraksjonsanalysen var lagt opp på en slik måte at det mest upolare av kjemikaliene som blei valgt ut til dette forsøket, kom i kontakt med plantematerialet først. Deretter fulgte stadig mer polare stoffer. Hensikten med dette var å undersøke på hvilken form silisium befant seg i planta. Plantemateriale fra NMD og ei norsk plante (skogsnelle 26/6 -00) blei tatt ut til forsøket.

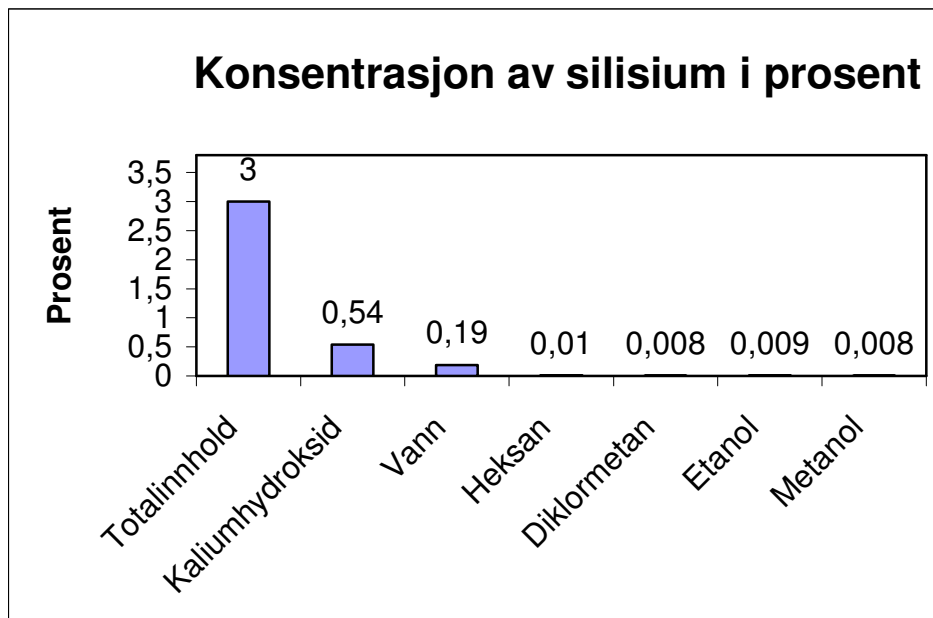
Som det framgår av tabellene 6-2 og 6-3 og figurene 6-3 og 6-4, blei det funnet lave konsentrasjoner av silisium i de organiske fraksjonene. Silisiuminnholdet i fraksjonene fra heksan til metanol var forholdsvis likt. Siden silisium opptrer i disse løsemiddelfraksjonene, er det grunn til å anta at silisium er knytta til organiske molekyler i plantene. Silisium følger altså med når større organiske molekyler løser seg opp i de aktuelle kjemikaliene. Annen forskning som er gjort på dette området, underbygger disse påstandene (Currie *et al.*). I denne sammenhengen er det verdt å legge merke til at siden en får ut lite silisium i de ulike uttrekkene er det sannsynlig at noe silisium er bundet til uløselige organiske molekyler i plantene. Det er verdt å nevne at deler av fraksjonsanalysen blei gjennomført med bruk av glassutstyr. Men siden silisium løses dårlig i organiske løsemidler, vil bidraget av silisium fra utstyret være minimalt.

Kaliumhydroksidfraksjonen inneholdt mye mer silisium enn de foregående fraksjonene. En forklaring på dette kan være at silisium på formen $\text{Si}(\text{OH})_4$, som er en svak syre, løses godt i det basiske KOH. En sammenligning av mengdene silisium som blei gjenfunnet i KOH-fraksjonen og i vannuttrekket tyder på at vann ikke er det mest optimale løsemiddelet for å frigjøre det aktuelle grunnstoffet. Det bør i denne sammenheng legges til at betingelsene i de to forsøkene, som før nevnt, ikke var like.

Tabell 6-2: Oversikt over innhold av silisium i ulike fraksjoner

Plantemateriale fra NMD		
	Løsemiddel	Si i uttrekk %
1	Heksan	0,01
2	Diklormetan	0,008
3	Etanol	0,009
4	Metanol	0,008
5	Kaliumhydroksid *	0,54

*ikke bruk av soxlet

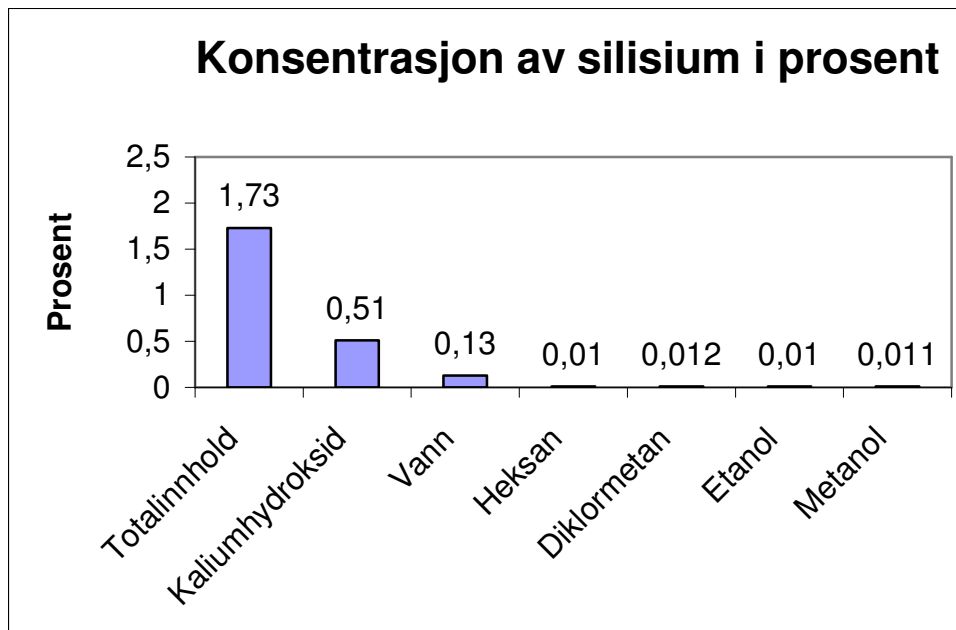


Figur 6-3: Plantemateriale fra NMD

Tabell 6-3: Oversikt over innhold av silisium i ulike fraksjoner

Norsk plante (skogsnelle 26/6 -00)		
	Løsemiddel	Si i uttrekk %
1	Heksan	0,010
2	Diklormetan	0,012
3	Etanol	0,010
4	Metanol	0,011
5	Kaliumhydroksid *	0,51

*ikke bruk av soxlet



Figur 6-4: Skogsnelle (26/6 -00)

6.3 SILISIUMINNHOLD I BRØD

Mye av det silisiumet en får i seg gjennom kosten, stammer fra mat laga av korn. Det blei derfor utført et forsøk for å sammenligne innholdet av silisium i brød og te basert på kjerringrokk.

Det viste seg at brødet undersøkt i forsøket inneholdt $0,09 \pm 0,02$ % silisium. Til sammenligning inneholder kjerringrokk markedsført av NMD 3,05 % silisium. Men siden det lages te av plantematerialet fra NMD, vil det være silisiummengden i vannuttrekket som er interessant med tanke på hvor mye silisium som faktisk er tilgjengelig for opptak i kroppen.

Ei om lag 1 cm tjukk brødskeive av det aktuelle brødet veide 33 gram. Ved inntak av ei brødskeive får en da i seg 0,03 gram silisium. Tillaging av te etter de metodene som er angitt i denne oppgava, vil med 1 gram plantemateriale som utgangspunkt gi inntak av om lag 0,002 gram silisium. Det er om lag 7 prosent av det som blir tilført fra ei brødskeive.

Hvor mye silisium har så kroppen bruk for? Det amerikanske "Food and Drug Administration" har kommet fram til at en gjennom kosten får i seg mellom 20-50 mg silisium per dag . I en belgisk studie (Van Dyck *et al.*, 1999) har en funnet ut at inntaket av silisium hos voksne varierte mellom 9,2 og 42,8 mg/dag med et gjennomsnitt på $18,6 \pm 8,5$ mg/dag. I artikkelen framgår det at det foreløpig ikke finnes noen anbefalinger på hvor mye silisium en bør ta til seg gjennom maten.

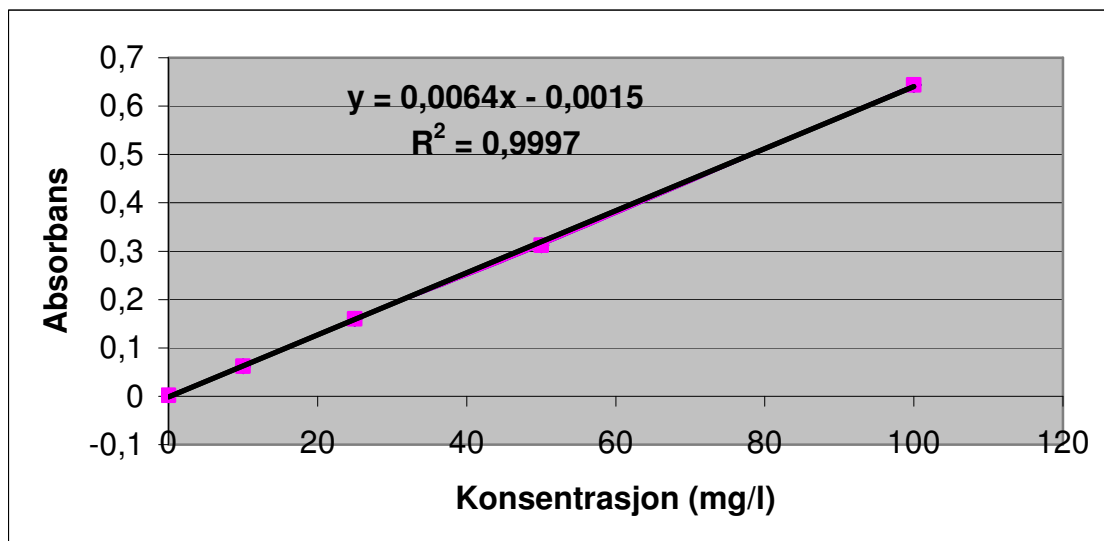
6.4 PARTIELL VALIDERING

For å sikre at metoden for bestemmelse av totalinnhold av silisium i plantematerialet fungerte som den skulle, blei det utført en analyse av et sertifisert referansemateriale (“NCS Certified Reference Material, Poplar leaves, Approved by China National Analysis Center for Iron and Steel, Beijing, China 1997”) med kjent silisiuminnhold ($0,71 \pm 0,06 \%$).

Referansematerialet blei behandla på samme måte som beskrevet for bestemmelse av total mengde silisium i innsamla plantemateriale og plantemateriale fra NMD.

Totalinnholdet av silisium i referansematerialet blei målt til $0,66 \pm 0,06 \%$ ved hjelp av metoden som beskrives i denne oppgava.

Det blei også funnet ut at standardkurven var lineær. Av figur 6-5 ser en at funksjonen for den rette linja er $0,0064x - 0,0015$ med en $r^2 = 0,9997$ for konsentrasjonsområdet 0-100 mg/l.



Figur 6-5

7. KONKLUSJON

Det har i dette arbeidet blitt utvikla metoder for bestemmelse av innholdet av silisium i ulike uttrekk av plantene *Equisetum arvense* (åkersnelle) og *Equisetum sylvaticum* (skogsnelle). En metode for å bestemme totalinnholdet av silisium i de nevnte plantene er også utvikla. I tillegg til dette har det blitt utvikla en metode for å måle silisiuminnholdet i brød.

Resultatene viser at silisiuminnholdet i *Equisetum arvense* og *Equisetum sylvaticum* er høyt i forhold til hos andre studerte planter. Dette er trolig grunnen til at mange bruker plantene som et kosttilskudd. Forsøkene viste likevel at det kun er en liten del av den totale silisiummengden i plantene en får i seg ved å lage te. Det viste seg at ei brødskive inneholdt om lag 15 ganger så mye silisium som en kopp te av plantematerialet tilberedt etter metodene i denne oppgava. Bidraget av silisium fra vanlig brød er dermed mye større enn bidraget fra teen.

Videre kom det fram gjennom fraksjonsanalysen at det var innhold av silisium i ulike organiske løsemiddeluttrekk av plantene. Dette kan tyde på at noe silisium er knytta til større organiske molekyler i planta. Det åpner muligheten for at silisium kan spille en større rolle i oppbyggingen av strukturer i planta enn tidligere antatt.

8. REFERANSELISTE

Bisset, N.G. og Wichtl, M., Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Medpharm Scientific Publishers, 2.utg., 2001, s. 188-190

Bruneton, J. Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants, Lavoisier Publishing Inc., 2.utg., 1999, s. 340-345

Bye, R., Professor, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

Currie, H.A., Mac Lean-Tooke, C. og Perry, C.C., Evidence for a role of plant cell wall carbohydrates in biosilicification of *Equisetum* (poster), Interdisciplinary Biomedical Research Centre, The Nottingham Trent University,

Do Monte, F.H.M., dos Santos Jr., J.G., Russi, M., Lanziotti, V.M.N.B., Leal, L.K.A.M og Cunha, G.M.A, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic extract of stems from *Equisetum arvense L.* in mice, Pharmacological Research, 2004, 49, s. 239-243

Holzhüter, G., Narayanan, K. og Gerber, T., Structure of silica in *Equisetum arvense*, Anal Bioanal Chem, 2003, 376, s. 512-517

Lassus, A., Colloidal Silicic Acid for the Treatment of Psoriatic Skin Lesions, Arthropathy and Onychopathy, A Pilot Study, The Journal of International Medical Research, 1997, 25, s. 206-209

Lassus, A., Colloidal silicic acid for oral and topical treatment of aged skin, fragile hair and brittle nails in females, J Int Med Res, 1993, 21(4), s 209-215

Lassus, A., Hyttelömäisen pihapon vaikutus psoriasisksen oireisiin, PSORI, 1992, s. 4-5 eller oversatt til svensk: Lassus, A., Effekt av kiselsyregel (Silicol) på psoriasisssymptom, PSORI, 1992, s. 4-5

Lindman, C., Nordens flora, Gyldendal norsk forlag, 1977, s. 8-9

Messerich, J., To the therapy of gastro-intestinal trouble with Sikapur (working title), ikke utgitte resultater, 1976

Perry, C.C. og Keeling-Tucker, T., Biosilification: the role of the organic matrix in structure control, J Biol Inorg Chem, 2000, 5, s. 537-550

Perry, C.C. og Keeling-Tucker, T., Aspects of the bioinorganic chemistry of silicon in conjunction with the biometals calcium, iron and aluminium, Journal of Inorganic Biochemistry, 1998, 69, s. 181-191

Roberts, N.B., Clough, A., Bellia, J.P. og Kim, J.Y., Increased absorption of aluminium from a normal dietary intake in dementia, Journal of Inorganic Biochemistry, 1998, 69, s. 171-176

Ryvarden, L., Norges Planter, J.W.Cappelens forlag as, 1993, s. 32-34

Thom, E., A randomized placebo controlled double-blind study of SILICOL in the treatment of non-ulcer-dyspepsia (NUD) (irritant bowel syndrome), Clinical report, Medstat Research A/S, 1996, Project No.: MR Code: 984

Van Dyck, K., Robberecht, H., Van Cauwenbergh, R. og Deelstra, H., Daily dietary silicon intake in Belgium using duplicate portion sampling, Eur Food Res Technol, 1999, 210, s. 77-79